

枸杞浆果中类黑素提取、纯化及应用的研究进展

郭潇涵¹,王雪梅¹,易帆¹,张富阳²

(1.兰州理工大学机电工程学院,甘肃兰州 730050;2.兰州三毛实业有限公司,甘肃兰州 730300)

摘要 类黑素具有抗氧化活性、抗菌活性等多种生物活性,可作为天然色素应用在纺织、食品、化妆品等行业中。介绍了枸杞作为熟化材料的优势,简单总结了类黑素常见的提取和纯化方法,展望了类黑素今后的发展。随着天然色素的不断开发与重视,其将会在更多领域得到应用。

关键词 枸杞;类黑素;提取;纯化;着色性能

中图分类号: TQ611 文献标志码: A 文章编号: 1005-9350(2021)03-0006-05

Development of extraction, purification and application of melanoids in Lycium barbarum L.

GUO Xiaohan¹, WANG Xuemei¹, YI Fan¹, ZHANG Fuyang²

(1. School of Mechano-Electronic Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China;

2. Lanzhou Sanmao Industrial Co. Ltd., Lanzhou 730300, China)

Abstract Melanoids have antioxidant activity, antibacterial activity and other biological activities, and can be used as natural pigments in textile, food, cosmetics and other industries. The advantages of Lycium barbarum L. as ripening material were introduced, the common extraction and purification methods of melanoids were summarized, and the future development of melanoids was look forward. With the continuous development and attention of natural pigment, it will be applied in more fields.

Key words Lycium barbarum L.; melanoids; extraction; purification; tinctorial property

类黑素是美拉德反应后期形成的一种棕褐色大分子物质,是非酶促褐变反应的主要产物^[1],其颜色自然,化学性质比较稳定,不会产生不良反应,具有较强的生物活性和保健功能,是一种环保型天然色素。类黑素的生物活性主要表现在抗氧化活性^[2-3]、抗菌活性^[3-5]、抗癌活性^[6-7]、抗高血压^[8]、类似膳食纤维^[9-11]、结合风味物质^[12-13]和其他生物活性^[14-15]等方面。结合类黑素的多种生物活性和优良的着色性能,将类黑素应用到纺织、食物、化妆品等行业中,与合成色素相比,具有操作简便、安全、无污染,着色产品自带天然生物活性、可完全生物降解等优势。

1 枸杞中的类黑素

1.1 枸杞熟化及美拉德反应

食品中通常含有一定的氨基类物质(如游离氨基酸、多肽、蛋白质等)和羰基类物质(如糖类、醛类、酮类等),常作为类黑素的来源^[16]。枸杞含有枸杞多糖、甜菜碱、多酚、类胡萝卜素、黄酮、蛋白质、维生素及多种微量元素等^[17],涵盖了美拉德反应所需要的物质(氨基和羰基)。王娜^[18]将一定质量的枸杞与水混合,在恒温恒湿箱中熟化48 h发生美拉德反应产生类黑素,得到的熟化枸杞颜色由橘红色变成棕褐

收稿日期: 2020-06-30

基金项目: 甘肃省科技计划资助(1606RJZA096)

作者简介: 郭潇涵(1994—),女,在读硕士,主要研究方向为天然染料的开发和应用研究。

通信作者: 王雪梅(1972—),女,甘肃临夏人,副教授,主要从事纺织品印染和后整理技术的教学和研究。

色,总酚和黄酮含量比普通枸杞高,抗氧化活性与抗菌活性也比普通枸杞高。胡云峰等^[19]以新鲜枸杞为原料,基于美拉德反应,采取三段式干制工艺制备的熟化枸杞为黑褐色,抗氧化活性显著高于普通干制枸杞,其总还原能力、羟基自由基清除能力和DPPH自由基清除能力分别是普通干制枸杞的1.87、1.45和2.21倍。

1.2 枸杞所含成分对晚期糖基化终末产物(AGEs)的抑制

1.2.1 AGEs的产生和危害

食物发生美拉德反应,反应产物除类黑素外,还有一些其他化学物质。AGEs是美拉德反应的高级产物,由羰基化合物和氨基基团作用的非酶促褐变反应产生^[20]。AGEs主要是还原糖和蛋白质、多肽、氨基酸等游离氨基通过美拉德反应形成的一系列结构复杂化合物的总称。目前已发现20多种结构,从来源上划分可分为内源性(在体内生成)和外源性(从食物中摄取)两大类;从结构上划分可分为有荧光的AGEs(戊糖素)、没有荧光的交联AGEs(精氨酸、赖氨酸咪唑复合物)及没有交联的AGEs(羧甲基赖氨酸,CML)等^[21]。目前,CML是AGEs中研究最广泛的种类^[22],CML与食品中总AGEs含量直接相关。由于AGEs的部分分子结构不明确,定量检测相对困难,因此通常检测荧光性产物和CML^[23]。

AGEs在人体中的含量超过一定值会导致多种疾病的产生,如糖尿病、尿毒症、冠心病、视网膜损坏、肌肤损害等。Vincent等^[24]报道AGEs可能会引起糖尿病、肥胖等与代谢有关的慢性疾病。Zheng等^[25]通过小白鼠对比实验发现,当饲料中的CML含量较高时,患肾病的比例大幅增加。Prasad等^[26]发现AGEs可通过调节血管的硬度、刺激炎症反应、促进动脉粥样硬化斑块的形成等作用参与到冠心病的病理生理过程。王倩等^[27]通过体外模拟实验发现,AGEs对视网膜血管细胞有一定的损伤。糖基化会通过蛋白质交联损伤^[28-29]、抑制成纤维细胞的产生^[30]、促进光老化^[31]3种方式对肌肤产生损伤。

1.2.2 对AGEs的抑制

枸杞由枸杞多糖、18种氨基酸、黄酮类化合物、酚类化合物、甜菜碱、类胡萝卜素、多种维生素及多种微量元素等组成^[32]。其中,类胡萝卜素的组成成分较为复杂,有10多种,除少量的玉米黄素和 β -胡萝卜素外,97%以上的类胡萝卜素都以酯化形式存在^[33]。脂溶性色素、 β -胡萝卜素、黄酮类化合物、酚类

化合物都可以抑制美拉德反应产生的有害物质AGEs。吕佳^[34]实验发现 β -胡萝卜素对CML有明显的抑制作用,对反应后期生成的类黑素有一定的抑制作用;番茄中脂溶性色素对CML有明显的抑制效果,对反应后期生成的类黑素也有一定的抑制作用。何勇林^[35]采用体外酶活抑制动力学实验研究了3种黄酮类化合物(落新妇苷、黄芩素和柚皮素)对AGEs的抑制作用。邓荣华等^[36]实验发现芦蒿秸秆对AGEs形成的抑制效果与总黄酮含量存在显著的线性关系。范智义等^[37]总结了天然酚类化合物通过4种机制(自由基清除、金属螯合、羰基清除以及蛋白质结合)抑制AGEs的生成,实验证明天然酚类化合物能够有效抑制AGEs的生成,天然酚类化合物对AGEs引发的某些疾病具有一定的预防与治疗作用。Ferchichi等^[38]证明了天然多酚类化合物可以有效抑制AGEs的形成。

2 类黑素的提取

类黑素是不同种类大分子化合物组成的水溶性复杂混合物^[39],不溶于有机化合物。提取方法主要有水浴提取法、乙醇提取法、超声波提取法。

2.1 水浴提取法

由于类黑素的亲水性,水浴提取法是目前最简单的类黑素提取方法。郭李云等^[40]用80℃热水在料液比1:10(质量:体积)下对老陈醋进行浸提,得到类黑素粗提物。但仅用水浴提取法提取,类黑素提取率不高,因此常借助其他方法联合提取。时川等^[41]以黑变的红枣枣皮为原料,运用单因素实验和响应面法优化黑变红枣枣皮类黑素的水浴与细胞破碎联动提取工艺,并建立回归模型;与常规水浴法和细胞破碎提取黑变红枣枣皮类黑素相比,水浴和细胞破碎联合提取效果更好,提取率为91.38%。水浴提取法虽然简单方便,但耗时长,提取率不高,导致原料浪费。

2.2 乙醇提取法

仅用水浴提取法来提取类黑素,由于水的极性不够强,并不能充分溶解食品中的类黑素,因此选用极性较强的乙醇作为提取溶剂。王超南等^[42]对板栗果仁进行微波灭酶,保证板栗发生非酶促褐变反应后,通过乙醇用量、提取时间、料液比、提取温度等单因素实验及正交实验确定类黑素的最佳提取工艺。王明慧等^[43]以糯米藕为原料,采用乙醇水溶液浸提法,通过单因素实验及正交实验确定糯米藕中类黑素的最佳提取工艺,得到糯米藕提取液中的类黑素

量(AV值)为8.235。乙醇提取法较单一水浴提取法提取率更高,但也面临着耗时长、提取不充分的问题。

2.3 超声提取法

为了更高效地提取类黑素,常以水或乙醇为提取溶剂,联合超声辅助提取类黑素。孔凡利等^[44]以水为溶剂提取豆豉类黑素,运用单因素实验和正交实验优化超声功率、液料比和超声时间,得到超声提取色素的最佳工艺,提取液的吸光值为0.240。时川等^[45]运用单因素实验和响应面优化法对黑变红枣枣皮类黑素的超声及超高压联动提取工艺进行优化,得到黑变红枣枣皮类黑素的吸收最大吸收波长为280 nm,超声提取最佳工艺为:超声温度64℃、超声功率90 W、超声时间31 min。超声辅助提取速度快、耗时间短、提取率高,是目前最高效的提取方法。

除了超声提取技术外,其他一些高效辅助提取技术也可以尝试应用在类黑素的提取中,例如微波提取技术、超临界流体萃取技术、高静水压萃取技术、脉冲电场技术、电离辐射技术等,需要进一步探讨和实验。

3 类黑素的纯化

由于食品中的类黑素不仅组成复杂、种类繁多,其形成还与外界温度、水分含量、pH等因素有关,因此不同食品中可能存在结构不一样的类黑素,不同结构的类黑素也可能存在于同一种食品中。为了得到精制类黑素,需要对提取的粗提类黑素进行纯化。

3.1 大孔树脂吸附纯化法

大孔树脂是多孔型球状材料,物理化学性质稳定,同时兼具吸附性和筛选性,吸附速度快、容量大,对天然色素具有良好的提取和纯化能力。郑佳佳^[46]使用D312树脂纯化类黑素,纯化后的类黑素总还原力和羟基自由基清除能力显著提高。何健等^[47]发现X-5树脂在类黑素溶液pH为6、质量浓度为30.12 mg/mL、吸附流速为1.5 mL/min时,对曲霉型豆豉类黑素的吸附效果最好。大孔树脂在类黑素纯化实验中使用频率较高,但也有一定的局限性,例如树脂使用寿命较短,表面及内部容易残留杂质,长时间使用树脂颗粒易破碎等。

3.2 凝胶层析法

凝胶层析法利用样品中各组分物理、化学性质的差别,使各组分以不同速度分布在两个相中,其中一个相固定(称为固定相),另一个相则流过此固定相(称为流动相),并使各组分以不同速度移动,从而

达到分离^[48]。郭彩华等^[49]运用Sephadex G-50柱层析法(即凝胶过滤法)除去小分子物质(氨基酸和氯化钠),经过纯化并冷冻干燥后可获得类黑素,纯化率为87.76%。Langner等^[50]采用Sepharose S-200 HR对马铃薯中类黑素进行了分离提纯,得到4个类黑素组分。凝胶层析法具有分离效率高、操作简便的优势,但耗时较长,对操作者技术要求较高。

4 类黑素着色性能的应用及展望

类黑素因多种生物活性功能受到医疗、食品等行业的广泛关注,但由于类黑素的复杂性,现有技术并不能完全了解类黑素的结构组成和所有生物活性性能,导致国内外对类黑素的应用多处于探索阶段。

国内外关于类黑素在食品、制药着色方面的文献较多,在纺织品、化妆品着色方面的文献较少。吴洪斌等^[51]以大麦为原料,对其干燥过程进行实验,随着温度的升高,类黑素含量上升,麦芽色度加深。Ohe等^[52]直接将尼龙与还原糖之一的木糖发生美拉德反应,反应后的纤维对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌等表现出强抗菌活性,验证织物可以通过天然染料获得生物活性,可完全生物降解。我所在的课题组^[53]尝试将未熟化的红色枸杞浆果在微波辅助下提取色素并上染纯棉织物,得到淡红色染色制品,耐洗色牢度达到3级以上,能满足正常穿着需要。

近些年,随着女性爱美心理日益增强,美瞳、眼影、眉粉、修容粉、染发剂等成为女性的日常用品。这些直接接触人类眼球或皮肤的产品,其色素安全性至关重要,所用色素必须无毒,需严格评价色素毒性、刺激性、致敏性、光毒性等指标^[54]。类黑素作为一种具有抗氧化性、抗菌性的棕褐色天然色素,可以应用到这些产品中。女性对美瞳的需求量很大,尤其是这种接近亚洲女性眼瞳的棕褐色色号,合成色素可能会因美瞳的佩戴不当引起眼部疾病^[55]。将类黑素运用到美瞳中,即使美瞳破损,色素流出,也不会对眼睛造成伤害。彩妆常被人诟病,称其为伤害皮肤的凶手,如将类黑素运用到眼影、眉粉、修容粉中,其抗氧化性会增加上妆持久度,抗菌性会增强皮肤抵抗力。类黑素的棕褐色属于染发剂中的流行色,色素较安全,不刺激、不伤害头皮,不污染环境,染出的发色更自然。

5 结语

类黑素广泛分布在人们的日常饮食中,由于类

黑素的复杂性,即使是最先进的分离和检测手段也不能完全确定类黑素的所有特性。尽管如此,类黑素仍然是国内外的学术研究热点,但这些研究主要集中在类黑素的抗氧化性、抗菌性、提取、纯化上,针对其着色性能及应用方面的研究较少。鉴于类黑素优良的着色性能和生物活性,可以尝试将其作为一种天然色素应用在食品、纺织、化妆品等行业中。随着天然色素不断开发与重视,类黑素将会在更多领域得到发展和应用。

参考文献:

- [1] 武奕宏,蔡菁华,黄漫青,等.板栗非酶促褐变的基础物质及产物分析[J].中国农学通报,2012,28(30):267-271.
- [2] 郭丽萍,王凤舞,唐娟.半乳糖-L-赖氨酸美拉德反应产物的抗氧化活性[J].食品研究与开发,2012,33(12):19-23.
- [3] MORALES F J, JIMÉNEZ-PÉREZ S. Peroxyl radical scavenging activity of melanoidins in aqueous systems[J]. European Food Research and Technology, 2004, 218(6):515-520.
- [4] SOMOZA V. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: an update[J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2005, 49(7):663-672.
- [5] HIRAMOTO S, ITOH K, SHIZUUCHI S, et al. Melanoidin, a food protein-derived advanced Maillard reaction product, suppresses helicobacter pylori in vitro and in vivo[J]. Helicobacter, 2004, 9(5):429-435.
- [6] LANGNER E, NUNES F M, POŻAROWSKI P, et al. Melanoidins isolated from heated potato fiber (potex) affect human colon cancer cells growth via modulation of cell cycle and proliferation regulatory proteins[J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 57(7):246-255.
- [7] MARKO D, HABERMEYER M, KEMÉNY M, et al. Maillard reaction products modulating the growth of human tumor cells in vitro[J]. Chemical Research in Toxicology, 2003, 16(1):48-55.
- [8] RUFIAN-HENARES J A, MORALES F J. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of coffee melanoidins[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(4):1480-1485.
- [9] SEIQUER I, RUBIO L A, PEINADO M J, et al. Maillard reaction products modulate gut microbiota composition in adolescents[J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2014, 58(7):1552-1560.
- [10] NUNES F M, COIMBRA M A. Melanoidins from coffee infusions fractionation, chemical characterization, and effect of the degree of roast[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(10):3967-3977.
- [11] REICHARDT N, GNIECHWITZ D, STEINHART H, et al. Characterization of high molecular weight coffee fractions and their fermentation by human intestinal microbiota[J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2009, 53(2):287-299.
- [12] HOFMANN T, CZERNY M, CALLIGARIS S, et al. Model studies on the influence of coffee melanoidins on flavor volatiles of coffee beverages[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(5):2382-2386.
- [13] HOFMANN T, SCHIEBERLE P. Chemical interactions between odor-active thiols and melanoidins involved in the aroma staling of coffee beverages[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(2):319-326.
- [14] DAGLIA M, TARSİ R, PAPETTI A, et al. Antiadhesive effect of green and roasted coffee on Streptococcus mutans' adhesive properties on saliva-coated hydroxyapatite beads[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(5):1225-1229.
- [15] 周娅,张海德,李奕星,等.果糖-赖氨酸模型体系美拉德产物不同级分对抑制香蕉酶促褐变相关性质的影响[J].现代食品科技,2013,29(11):2653-2657.
- [16] FAIST V, LINDENMEIER M, GEISLER C, et al. Influence of molecular weight fractions isolated from roasted malt on the enzyme activities of NADPH-cytochrome c-reductase and glutathione-S-transferase in Caco-2 cells[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(3):602-606.
- [17] 苏国辉,米雪松.中药材枸杞子药食同源的机理[J].生命科学,2015,27(8):1070-1075.
- [18] 王娜.枸杞熟化过程中美拉德反应的研究[D].天津:天津科技大学,2018.
- [19] 胡云峰,陈君然,胡晗艳,等.熟化枸杞子的加工工艺及功能特性[J].农业工程学报,2017,33(8):309-314.
- [20] 谢欢.不同时空条件下微波对蛋清蛋白糖基化反应的影响[D].南昌:南昌大学,2017.
- [21] HOSSAM A, HANY E, GAMAL A, et al. Phenolics from Garcinia mangostana inhibit advanced glycation end products formation: effect on amadori products, cross-linked structures and protein thiols[J]. Molecules, 2016, 21(251):1-15.
- [22] CHAO P C, HUS C C, YIN M C. Analysis of glycative products in sauces and sauce-treated foods[J]. Food Chemistry, 2009, 113(1):262-266.
- [23] SMIT A J, LUTGERS H L. The clinical relevance of advanced glycation endproducts (AGE) and recent developments in pharmaceuticals to reduce AGE accumulation[J]. Current Medicinal Chemistry, 2004, 11(20):2767-2784.
- [24] MONNIER V M, TANIGUCHI N. Advanced glycation in diabetes, aging and age-related diseases: conclusions[J]. Glycoconjugate Journal, 2016(4):1-2.

- [25] ZHENG F, HE C, CAI W. Prevention of diabetic nephropathy in mice by a diet low in glycoxidation products[J]. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 2002, 18(3):224-237.
- [26] PRASAD A, BEKKER P, TSIMIKAS S. Advanced glycation end products and diabetic cardiovascular disease[J]. *Cardiol Rev.*, 2012, 20(4):177-183.
- [27] 王倩, 江国荣, 王纯庠. 二羰基化合物与糖尿病慢性并发症关系的研究进展[J]. *安徽医药*, 2010, 14(2):130-133.
- [28] 陈婷, 马刚. 非酶糖化与皮肤自然衰老的关系[J]. *皮肤病诊疗学杂志*, 2013, 20(5):365-367.
- [29] 孙红艳, 刘洪臣. 晚期糖基化终末产物(AGEs)与衰老[J]. *中华老年口腔医学杂志*, 2011, 8(5):314-317.
- [30] ALIKHANI Z, ALIKHANI M, BOYD C M. Advanced glycation end products enhance expression of pro-apoptotic genes and stimulate fibroblast apoptosis through cytoplasmic and mitochondrial pathways[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(13):12087-12095.
- [31] 郝建春. 光老化皮肤中弹性纤维、胶原纤维的变化和AGEs的表达[D]. 晋中:山西医科大学, 2009.
- [32] 刘莹玉. 枸杞化学成分与生理作用的研究现状[J]. *农村经济与科技*, 2017, 28(8):39, 344.
- [33] 李赫, 陈敏, 马文平, 等. 不同成熟期枸杞中类胡萝卜素含量的变化规律[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(3):599-605.
- [34] 吕佳. β -胡萝卜素和番茄中脂溶性色素对糖基化产物的抑制研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 2017.
- [35] 何勇林. 三种黄酮类化合物抑制 α -葡萄糖苷酶活性和晚期糖基化终末产物生成作用研究[D]. 沈阳:辽宁大学, 2019.
- [36] 邓荣华, 陆敏, 夏秋琴, 等. 芦蒿秸秆黄酮类化合物对晚期蛋白质糖基化终末产物形成的抑制作用[J]. *食品科学*, 2013, 35(9):123-127.
- [37] 范智义, 袁晓金, 贾本盼, 等. 天然酚类化合物对晚期糖基化末端产物抑制作用研究进展[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(3):306-316.
- [38] FERCHICHI L, DERBRÉ S, MAHMOOD K, et al. Bioguided fractionation and isolation of natural inhibitors of advanced glycation end-products (AGEs) from *Calophyllum flavoramulum*[J]. *Phytochemistry*, 2012, 78:98-106.
- [39] WELLNER A, HUETTL C, HENLE T. Formation of Maillard reaction products during heat treatment of carrots[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59:7992-7998.
- [40] 郭李云, 杨小兰. 山西老陈醋类黑精的分离及其抑菌活性[J]. *食品科学*, 2015, 37(13):25-30.
- [41] 时川, 高琳, 孙欣, 等. 响应面法优化黑变红枣皮类黑精细胞破碎和水浴联动提取工艺[J]. *中国食物与营养*, 2019, 25(4):43-48.
- [42] 王超南, 董霞, 庞美霞, 等. 板栗非酶促褐变产物类黑精的研究[J]. *北京农学院学报*, 2015, 30(3):112-115.
- [43] 王明慧, 闫佳, 韩永斌, 等. 糯米藕类黑精提取工艺及其体外的抗氧化活性[J]. *食品与发酵工业*, 2014, 40(10):223-228.
- [44] 孔凡利, 邝瑞彬, 郑继昌, 等. 豆豉类黑精超声提取工艺研究[J]. *现代食品*, 2019(24):77-78.
- [45] 时川, 李坤, 高琳, 等. 响应面法优化超声波提取黑变枣皮类黑精及其联动超高压工艺[C]//中国食品科学技术学会第十五届年会论文摘要集, 2018:308-309.
- [46] 郑佳佳. 酒糟类黑精提取、纯化技术研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2015.
- [47] 何健, 黄占旺, 史杰, 等. 大孔树脂对曲霉型豆豉类黑精的精制研究[J]. *食品科学*, 2007(4):156-159.
- [48] 苏立强, 郑永杰. 色谱分析法[M]. 北京:清华大学出版社, 2017.
- [49] 郭彩华, 林丽, 陈昭华, 等. 黑酱油类黑素的提取、光谱性质及功能[J]. *食品科学*, 2012, 33(11):89-93.
- [50] LANGNER E, NUNES F M, POZAROWSKI P, et al. Antiproliferative activity of melanoidins isolated from heated potato fiber (potex) in glioma cell culture model[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(6):2708-2716.
- [51] 吴洪斌, 俞建民, 李赟, 等. 不同干燥条件下麦芽色度与类黑精的关系研究[J]. *甘肃农业大学学报*, 2010, 45(1):130-133.
- [52] OHE T, MORIYOSHI K, OHMOTO T, et al. Anti-bacterial activity of polyamide fibers colored by mallard reaction[J]. *Fiber*, 2015, 71(4):151-156.
- [53] 郭潇涵, 王雪雪, 张富阳, 等. 响应面法优化枸杞红色素对棉织物的染色工艺[J]. *染整技术*, 2020, 42(6):14-18.
- [54] 董银卯, 邓小锋. 化妆品植物原料现状、应用与发展趋势[J]. *轻工学报*, 2016, 31(4):30-38.
- [55] KHATER M M, EL-SHORBAGY M S. 与隐形眼镜相关的感染性角膜炎-埃及5年流行病学研究(英文)[J]. *国际眼科杂志*, 2015, 15(10):1675-1679.

